

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontieteellinen		Perinnöllisyystieteen laitos	
Tekijä — Författare			
Sirkku Saarikoski			
Työn nimi — Arbetets titel			
Vierasainemetabolian merkitys keuhkosyövässä; <i>in situ</i> -hybridisaation soveltaminen CYP1A1-mRNA:n tunnistamiseen			
Oppiaine — Läroämne			
Perinnöllisyystiede			
Työn laji — Arbetets art		Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal
Pro gradu		Marraskuu 1992	59 + 1 liite,
Tiivistelmä — Referat			
<p>Työn tarkoituksena oli selvittää <i>in situ</i> -hybridisaatio -menetelmän soveltuvuutta CYP1A1-geenin ekspression paikantamiseen ihmisen keuhkokudoksessa; työ liittyy yksilölliseen vaihteluun kyvysä metaboloida polysyklisiä aromaattisia hiilivetyjä (PAH-yhdisteitä) eri kudoksissa.</p> <p>Tupakansavun sisältämistä karsinogeneeneistä PAH-yhdisteet metaboloituvat aktiivisiksi karsinogeenisiksi välituotteiksi pääasiassa sytokromi P450IA1-isoentsyymistä riippuvaisen AHH (Aryl Hydrocarbon Hydroxylase)-entsyymin vaikutuksesta. P450IA1-isoentsyymiä koodaava geeni on nimetty CYP1A1:ksi. AHH-indusoituvuuden on todettu olevan geneettisesti säädeltyä; kaukaasialaisesta väestöstä noin 10 % arvioidaan olevan voimakkaasti indusoituvaa fenotyyppiä. Tällaisilla henkilöillä on eräissä tutkimuksissa todettu olevan muita suurempi riski sairastua joihinkin syöpäsairauksiin, mm. keuhkosyöpään, minkä arvellaan olevan seurausta voimakkaan metabolian aiheuttamasta runsaasta aktiivisten metaboliittien tuotosta.</p> <p>Immunohistokemian avulla P450IA-entsyymien on osoitettu paikantuvan keuhkoissa perifeeraalisten ilmasteiden epiteeli-soluihin. Immunohistokemiassa käytetty vasta-aine tunnistaa kuitenkin sytokromi P450IA1:n lisäksi myös P450IA2-isoentsyymien. Geeniekspression tutkiminen mRNA-tasolla käyttäen <i>in situ</i> -hybridisaatiota mahdollistaa ekspression paikantamisen CYP1A1-geenille spesifisten koettimien avulla ja antaa lisäksi immunohistokemiaa suurempaa tietoa geeniekspressiosta.</p> <p>Lähetä-RNA:han kohdistetun <i>in situ</i> -menetelmän käyttöönotto aloitettiin soveltamalla menetelmää V79-solulinjaan, johon on transfektoitu rotan Cyp1a1-geenin cDNA (=XEM2-solut). RNA-koettimilla suoritetuissa hybridisaatioissa käytettiin kontrolleina RNAasilla käsiteltyjä ja epäspesifisellä koettimella hybridisoituja XEM2-soluviljelmia sekä indusoimattomia CHO (Chinese Hamster Ovary)-soluviljelmia. Kolmen koesarjan jälkeen olosuhteet saatiin optimoitua niin, että koetin sitoutui spesifisesti XEM2-solujen Cyp1a1-mRNA:han ja kontrolleissa esiintyvä epäspesifinen sitoutuminen saatiin vähäiseksi.</p> <p><i>In situ</i> -menetelmän soveltaminen ihmisen keuhkokudosleikkeille osoittautui vaikeaksi ja vain yhdessä tapauksessa voitiin havaita spesifisen koettimen sitoutumista ilmatiehyen epiteelisoluihin. Kontrollikoettimella hybridisoidussa leikkeessä vastaavaa lokalisaatiota ei esiintynyt. Keuhkoleikkeiden hybridisaatiossa esiintyneet ongelmat johtunevat RNA:n osittaisesta tuhoutumisesta ennen kudoksen fiksointia sekä geenin varsin alhaisesta ekspresiotasosta ihmisen keuhkoissa.</p>			
Avainsanat — Nyckelord			
CYP1A1, P450IA1, <i>in situ</i> -hybridisaatio, keuhkokudos, mRNA			
Säilytyspaikka — Förvaringställe			
Perinnöllisyystieteen laitoksen kirjasto			
Muuta tietoja — Övriga uppgifter			